Aus der Medizinischen Klinik der
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. med. N. Henning)

# Dünnschichtchromatographische Untersuchungen über die Auftrennung von Steroidgemischen und die Ausscheidung intravenös applizierter Glucocorticoidester in Galle und Duodenalsaft

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von
Friedrich-Wilhelm Funck
Bad Salzuflen

D 29

1964 # 1

Dekan: Prof. Dr. med. G. Theissing

Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Tag der mündl. Prüfung: 27. 2. 1964

ACTA ENDOCRINOLOGICA
*43* (1963) 227–245

Medizinische Universitätsklinik Erlangen, Deutschland
(Professor Dr. N. Henning)

R. UNIV. BIBLIOTH LEI

# DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE AUFTRENNUNG VON STEROIDGEMISCHEN UND DIE AUSSCHEIDUNG INTRAVENÖS APPLIZIERTER GLUCOCORTICOIDESTER IN GALLE UND DUODENALSAFT

Von

*F. Scheiffarth, L. Zicha, F.-W. Funck und M. Engelhardt*

## ABSTRACT

The elimination of prednisolone- and 6$\alpha$-methyl-prednisolone-sodium-hemisuccinate as well as of some of their possible metabolites into the duodenal juice of healthy subjects and patients with liver disease was studied using thin layer chromatography. The glucocorticoids were given intravenously. The fractions found in the chromatograms were characterized by their $R_f$-values and by means of four different colour reactions. In each chromatogram the colour spots of duodenal extracts were compared with standards alone and standards added to duodenal juice extracts before glucocorticoid intravenous injection.

The prednisolone-sodium-hemisuccinate fraction was found in the duodenal juice of healthy subjects during 30 and in patients with liver disease during 60 minutes after intravenous injection. 20 minutes after the injections an additional fraction with free alcohol of prednisolone and a few minutes later a prednisolone acetate fraction appeared in the duodenal juice of the healthy control group, while the prednisolone acetate bond was absent in patients with severe liver disease.

After the intravenous injection of 6$\alpha$-methyl-prednisolone-sodium-hemisuccinate the specific ester spots and the free alcohol fraction of this glucocorticoid were eliminated into the duodenal juice in the same way as the corresponding prednisolone ester. During the collection periods of 20–60 minutes after injection the prednisolone-sodium-hemisuccinate and prednisolone acetate spots were also found in the duodenal juice. The prednisolone acetate was either reduced or absent in the group of patients with liver disease. In the course of normalization of pathological liver function tests, the glucocorticoid acetate bonds appeared again.

It must be concluded, that water soluble glucocorticoid esters and their metabolites are eliminated into the duodenal juice and that C-21-acetates probable derive from the liver.

Seit den ersten Mitteilungen von Stahl 1957 (*Stahl* 1958, 1959, 1962) über Dünnschichtschromatographie wurde diese Methode mit Erfolg zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung zahlreicher Substanzen angewandt. Bezüglich der Trennung von Steroidgemischen liegen erst wenige Arbeiten vor (*Gould & Purshottam* 1962; *Lisboa* 1962; *Luisi et al.* 1962; *Waldi & Munter* 1960). Es wurde bei diesen Versuchen eine grössere Reihe von Laufmitteln beschrieben, wobei chemisch nahe verwandte Substanzen mit Hilfe unterschiedlicher Lösungsmittelsysteme auf verschiedenen Platten getrennt wurden. Meist beschränkten sich die Autoren auf die Ausarbeitung entsprechender Methoden, ohne diese auch auf Steroidbestimmungen in biologischen Flüssigkeiten anzuwenden. Es erschien uns daher wichtig, ein Laufmittel zu finden, das 1. gute Trennungen einer grösseren Anzahl von Steroiden ermöglicht, 2. sich auch für die Aufarbeitung von Steroidextrakten biologischer Flüssigkeiten eignet und 3. möglichst kurze Laufzeiten gewährleistet. Ferner sollte bei den Färbeverfahren eine möglichst umfangreiche Differenzierung erreicht werden, wobei besonderer Wert darauf gelegt wurde, die Bestimmung bei einem Lauf und auf einer Platte vorzunehmen, um auch Metaboliten zu erfassen, die nur in geringsten Mengen vorkommen. Dies erschien uns insofern wesentlich, als z. B. nach der Applikation eines Glucocorticoids die Abstände der Sammelperioden von Körperflüssigkeiten möglichst kurz gewählt werden sollten. Somit stand zu erwarten, dass die Steroidmengen des jeweiligen Extraktes u. U. sehr niedrig sind.

Da die Leber wegen ihres reichen Gehaltes an steroidmetabolisierenden Enzymen eine wichtige Rolle im Stoffwechsel dieser Substanzen besitzt, haben wir uns zunächst der Frage gewidmet, inwieweit und wie lange intravenös applizierte Glucocorticoidester beim Menschen über die Galle ausgeschieden werden, und welche Stoffwechselprodukte der applizierten Steroide festgestellt werden können. In früheren Versuchen war es uns bereits mit Hilfe von Gruppenreaktionen sowie papierchromatographisch gelungen, die Ausscheidung von Glucocorticoiden über Galle, Speichel und Magensaft nachzuweisen (*Zicha et al.* 1960). Schliesslich blieb zu klären, ob qualitative und quantitative Unterschiede der Steroidelimination über die Galle zwischen lebergesunden Versuchspersonen und Patienten mit Leberparenchymerkrankungen und solchen mit einer Cholostase bestehen.

## METHODIK

Die Bereitung der Platten für die Chromatographie erfolgte nach der von Stahl angegebenen Arbeitsvorschrift*). Unter zahlreichen getesteten Laufmittelsystemen eignete sich schliesslich ein Gemisch von $CCl_4 : CH_3OH = 9 : 1$, bzw. 8 : 2. Für besondere Fragestellungen kam auch ein System von Chloroform : Aceton = 9 : 1 zur Anwendung. Die Färbung der getrockneten Platten wurde mit einer 40 %igen Phosphorsäure vorgenommen. Anschliessend wurden die Platten 10 bis 20 Minuten lang bei 120 Grad Celsius getrocknet. Nach Auswertung des Chromatogramms bei Tageslicht und im UV-Licht (Quarzlampe S 500. Ges. m. b. H. Hanau) und Dokumentation durch Farbfotographie wurde mit Phosphormolybdänsäurereagenz (1,5 g Phosphormolybdänsäure in 100 ml Äthanol) nachbesprüht und entsprechend der ersten Färbung ausgewertet. Färbungen mit Triphenyltetrazoliumreagenz und insbesondere mit Metadinitrobenzol in alkoholischer Kalilauge gestatten zwar eine weitere Differenzierung, sind jedoch weniger empfindlich. Mit der genannten Doppelfärbung können bei Tageslicht Mengen bis zu 0,1 $\mu$g, im UV-Licht bis zu 0,01 $\mu$g nachgewiesen werden. Nach der angegebenen Methode wurden 41 Steroide und Steroidester chromatographisch untersucht und ihre $R_f$-Werte sowie die gegildeten Farben an Hand von jeweils 5 bis 10 Einzelversuchen ermittelt. Die Substanzen wurden bei diesen Versuchen einzeln und in Gemischen aufgetragen. Die Ergebnisse dieser Testversuche sind an anderer Stelle veröffentlicht (*Zicha & Funck*, im Druck). In Tabelle 1 sind die $R_f$-Werte sowie die Farbreaktionen der Steroide angegeben, die als wichtigste Testsubstanzen zur Charakterisierung von applizierten Steroiden und deren Metaboliten im Duodenalsaft Verwendung fanden.

In weiteren Versuchsreihen haben wir bei 13 lebergesunden Versuchspersonen den Duodenalsaft in 10 bzw. 20 Minutenportionen gesammelt und jeweils vor und während eines Zeitraumes von 60 bis 120 Minuten nach einer intravenösen Applikation von 25 bis 75 mg Prednisolon-Na-hemisuccinat**) oder 20 bis 60 mg 6$\alpha$-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat**) auf seinen Gehalt an diesen Steroidkonjugaten und eventuellen Metaboliten untersucht. In gleicher Weise kontrollierten wir 3 Patientinnen mit einem T-Drain, sowie 14 Fälle mit schweren, z. T. chronischen Leberparenchymschäden und 5 Fälle mit Cholecystopathie. Die Patienten mit Leberparenchymschäden wurden während der Behandlung z. T. über einen Zeitraum von drei Monaten ein- bis zweimal wöchentlich untersucht. Die Aufarbeitung der Galleflüssigkeit, bzw. des Duodenalsaftes, erfolgte hierbei in folgender Weise: Nachdem in Vorversuchen mit reiner Galle zwar prinzipiell gleiche Ergebnisse erzielt wurden, jedoch die Konzentrationen, insbesondere für die Bestimmung von Metaboliten zu gering waren, haben wir die Galle jeweils bei Zimmertemperatur mit Äthyläther, Chloroform oder Butanol extrahiert, und die Extrakte bei 40 Grad Celsius und leichtem Unterdruck zur Trockne eingedampft. Die Trockne wurde in 96 %igem Äthanol gelöst und quantitativ aufgetragen. Bei jedem Chromatogramm liefen Galleleerwerte, Testsubstanzen sowie Zusatzversuche mit. Nach alleiniger Äthylätherextraktion konnten 70 bis 80 % des freien Alkohols und des Acetats sowie 50 bis 70 % der applizierten Steroidkonjugate wiedergefunden werden. Mit Chloroform und Butanol gelang es, die Ausbeute auf über 90 % zu verbessern.

---

*) Wir danken Herrn Dr. Waldi, Merck AG., Darmstadt, für die freundliche Beratung sowie methodische Hinweise.

**) Wir danken der Fa. Höchst AG., Frankfurt Höchst, sowie der Fa. Merck AG., Darmstadt, für die freundliche Überlassung grösserer Versuchsmengen.

*Tabelle 1.*
*Testsubstanzen* (Laufmittel : $CCl_4 : CH_3OH = 8 : 2$).

| Nr. | Substanz | $R_f$ | *Farbe nach* | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $H_3PO_4$ | | $P_2O_5 \cdot 24\ MoO_3 \cdot xH_2O$ in $C_2H_5OH$ | |
| | | | Tageslicht | UV | Tageslicht | UV |
| 1 | Prednisolon-Na-hemisuccinat | 0,05–0,1 | gelbbraun | gelb | braungrau | grüngelb |
| 2 | Prednisolon freier Alkohol | 0,50 | gelbbraun | gelb | braungrau | grüngelb |
| 3 | Prednisolonacetat | 0,69 | gelbbraun | gelb | braungrau | grüngelb |
| 4 | 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisucc. | 0,05–0,1 | rotbraun | rotbraun | braungrau | braungelb |
| 5 | 6α-Methyl-Prednisolon freier Alkohol | 0,51 | rotbraun | rotbraun | grüngrau | braungelb |
| 6 | 6α-Methyl-Prednisolonacetat | 0,86 | rotbraun | rotbraun | braungrau | braungelb |

## ERGEBNISSE

Im Duodenalsaft lebergesunder Patienten und in der Galle von Patienten mit einer T-Drainage liessen sich die beiden applizierten Steroidkonjugatfraktionen nur während eines Zeitraumes von 10 bis 30 Minuten nach der intravenösen Injektion unverändert darstellen. In den Tabellen 2 und 4 sind die im Ablauf einer intravenösen Applikation verschiedener Dosen von Prednisolon-Na-hemisuccinat und 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat erhaltenen Unter-

*Tabelle 2.*

Elimination von Steroidmetaboliten im Duodenalsaft von lebergesunden Versuchspersonen nach intravenöser Applikation von Prednisolon-Na-hemisuccinat.

| Nr. | Name, Geschl. | Dosis i. v. | Zeit p. i. | Fraktion des Prednisolon-Na-hemi-succinats | Fraktion des Prednisolon freien Alkohols | Fraktion des Prednisolon-acetats |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | K. E. | 50 mg | 20′ | (+) | ++ | |
| | m. | | 40′ | | +++ | + |
| | | | 60′ | | +++ | + |
| 6 | W. Scha. | 50 mg | 20′ | + | | |
| | m. | | 40′ | | ++ | |
| | | | 60′ | | +++ | ++ |
| 3 | M. B. | 50 mg | 20′ | + | ++ | |
| | m. | | 60′ | | ++ | ++ |
| 4 | F. J. | 75 mg | 10′ | (+) | | |
| | m. | | 20′ | ++ | +++ | |
| | | | 30′ | + | ++++ | + |
| | | | 40′ | | ++++ | ++ |
| | | | 60′ | | ++++ | + |
| 5 | I. N. | 75 mg | 20′ | + | ++ | |
| | w. | | 40′ | (+) | +++ | (+) |
| | | | 50′ | | ++++ | ++ |
| | | | 60′ | | ++++ | ++ |
| 6 | L. R. | 75 mg | 20′ | + | ++ | |
| | w. | | 30′ | ++ | ++ | |
| | | | 40′ | | +++ | |
| | | | 50′ | | ++++ | + |
| | | | 60′ | | ++++ | ++ |

(+) = 0,01–0,05 μg
\+ = 0,05–0,5 „
++ = 0,5 –2 „
+++ = 2–20 μg
++++ = 20–100 „

*Tabelle 3.*

Elimination von Steroidmetaboliten im Duodenalsaft von Patienten mit Erkrankungen den Gallenwegssystems und mit Leberparenchymschaden nach intravenöser Applikation von Prednisolon-Na-hemisuccinat.

| Nr. | Name, Geschl. | Diagnose | Dosis i. v. | Zeit p. i. | Fraktion des Prednisolon-Na-hemi-succinats | Fraktion des Prednisolon freien Alkohols | Fraktion des Prednisolon-acetats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | A. G. | Gallenwegs- | 50 mg | 20′ | + | + | |
| | w. | infekt | | 30′ | | +++ | |
| | | | | 40′ | | ++ | |
| | | | | 60′ | | ++ | |
| 2 | G. N. | Cholelithia- | 75 mg | 20′ | | | |
| | w. | sis (leber- | | 40′ | + | +++ | (+) |
| | | gesund) | | 50′ | + | ++++ | ++ |
| | | | | 60′ | + | ++++ | ++ |
| 3 | S. F. | Cholostase | 50 mg | 20′ | | + | |
| | w. | und | | 40′ | + | ++ | |
| | | M. Addison | | 60′ | ++ | ++ | |
| 4 | I. L. | Verschluss- | 50 mg | 30′ | + | ++ | |
| | w. | ikterus u. | | 60′ | + | ++ | |
| | | Zustand n. | | 90′ | | + | |
| | | Cholecyst- | | 120′ | | | |
| | | ektomie | | | | | |
| 5 | A. R. | Choleli- | 75 mg | 10′ | | | |
| | w. | thiasis | | 20′ | + | ++ | |
| | | | | 30′ | ++ | ++ | |
| | | | | 40′ | ++ | +++ | |
| | | | | 50′ | ++ | +++ | + |
| | | | | 60′ | (+) | ++++ | ++ |
| 6 | O. H. | akute | 50 mg | 20′ | + | | |
| | m. | Hepatitis | | 40′ | + | ++ | |
| | | | | 60′ | | ++ | |
| 7 | F. B. | subchron. | 50 mg | 20′ | (+) | ++ | |
| | m. | Hepatitis | | 40′ | | +++ | |
| | | | | 60′ | | +++ | |
| 8 | W. N. | akute | 50 mg | 20′ | | | |
| | m. | Hepatitis | | 40′ | + | +++ | |
| | | | | 60′ | + | ++++ | |
| 9 | E. L. | Hepatitis | 50 mg | 20′ | ++ | | |
| | m. | | | 40′ | + | +++ | |
| | | | | 60′ | | +++ | |

*Tabelle 3* (fortgesetzt).

| Nr. | Name, Geschl. | Diagnose | Dosis i. v. | Zeit p. i. | Fraktion des Prednisolon-Na-hemi-succinats | Fraktion des Prednisolon freien Alkohols | Fraktion des Prednisolon-acetats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10a | O. S. w. | chronische Hepatitis | 100 mg | 20′ | ++ | ++ | |
| | | | | 40′ | ++ | +++ | |
| | | | | 60′ | + | ++++ | |
| 10b | O. S. w. | chronische Hepatitis | 50 mg | 20′ | + | ++ | |
| | | | | 40′ | | ++ | |
| 10c | O. S. w. | chronische Hepatitis | 50 mg | 15′ | | | |
| | | | | 30′ | ++ | ++ | |
| | | | | 45′ | ++ | ++ | |
| | | | | 60′ | | ++ | |
| 10d | O. S. w. | chronische Hepatitis | 25 mg | 20′ | + | | |
| | | | | 40′ | + | ++ | |
| 10e | O. S. w. | chronische Hepatitis | 25 mg | 20′ | | | |
| | | | | 40′ | | + | |
| 11a | V. K. w. | akute Hepatitis | 50 mg | 20′ | | | |
| | | | | 40′ | + | ++ | |
| | | | | 60′ | + | ++ | |
| 11b | V. K. w. | akute Hepatitis | 75 mg | 20′ | | | |
| | | | | 40′ | ++ | ++++ | |
| | | | | 60′ | ++ | ++++ | |
| 11c | V. K. w. | akute Hepatitis | 50 mg | 20′ | (+) | ++ | |
| | | | | 30′ | + | ++ | |
| | | | | 40′ | ++ | ++++ | |
| 12a | W. R. w. | Fett- und Stauungs-leber | 50 mg | 20′ | + | (+) | |
| | | | | 40′ | ++ | ++ | |
| | | | | 60′ | ++ | ++ | |
| 12b | W. R. w. | Fett- und Stauungs-leber | 75 mg | 10′ | | | |
| | | | | 20′ | + | ++ | |
| | | | | 30′ | ++ | ++ | |
| | | | | 40′ | ++ | +++ | |
| | | | | 50′ | + | ++++ | + |
| | | | | 60′ | | ++++ | ++ |
| 13 | M. W. m. | Hepatitis | 50 mg | 20′ | + | ++ | |
| | | | | 40′ | + | +++ | |
| | | | | 60′ | | +++ | |
| 14 | A. W. w. | Herz-insuffizienz mit Leber-stauung | 50 mg | 20′ | + | | |
| | | | | 40′ | ++ | ++ | |
| | | | | 60′ | + | +++ | |

*Tabelle 4.*

Elimination von Steroidmetaboliten im Duodenalsaft von lebergesunden Versuchspersonen nach intravenöser Applikation von 6α-Methyl-Prednisolone-Na-hemisuccinat.

| Nr. | Name, Geschl. | Dosis i. v. | Zeit p. i. | Fraktion des 6α-$CH_3$-Prednisolon-Na-hemi-succinats | Fraktion des 6α-$CH_3$-Prednisolon freien Alkohols | Fraktion des Prednisolon-Na-hemi-succinats | Fraktion des Prednisolon-acetats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | I. B. | 60 mg | 20′ | ++ | +++ | | ++ |
| | w. | | 40′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | 60′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | 70′ | | +++ | ++ | +++ |
| 2 | K. R. | 60 mg | 20′ | | | | |
| | m. | | 40′ | | ++++ | ++ | + |
| | | | 60′ | | +++ | ++ | ++ |
| 3 | I. N. | 60 mg | 20′ | (+) | | | |
| | w. | | 40′ | | ++ | | |
| | | | 60′ | | +++ | | ++ |
| 4 | D. K. | 60 mg | 20′ | | ++ | | |
| | w. | | 40′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | 60′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | 70′ | | +++ | ++ | ++ |
| 5 | L. H. | 60 mg | 20′ | | ++ | + | |
| | w. | | 40′ | | +++ | ++ | +++ |
| | | | 60′ | | ++++ | ++ | ++ |
| 6 | F. Schn. | 40 mg | 20′ | (+) | | | |
| | w. | | 40′ | | +++ | ++ | ++ |
| | | | 60′ | | +++ | ++ | ++ |
| 7 | K. E. | 60 mg | 20′ | | | | |
| | w. | | 40′ | | +++ | ++ | ++ |
| | | | 60′ | | +++ | + | + |

suchungsergebnisse zusammengefasst. Es zeigte sich hierbei, dass bereits nach 10 bis 20 Minuten die Fraktionen des *freien Alkohols* des *Prednisolon* und des *6α-Methyl-Prednisolon* nachweisbar werden. Geringe Mengen von Prednisolon freiem Alkohol liessen sich wegen des ähnlichen $R_f$-Wertes und der stärkeren Farbintensität des 6α-Methyl-Prednisolon freien Alkohols in dieser Fraktion nach Applikation des methylierten Hemisuccinatesters nicht ausschliessen. In den folgenden Duodenalsaftsammelportionen nahm die Farbintensität der freien Alkoholfraktion dieser Glucocorticoide weiterhin zu, und nach 40 bis

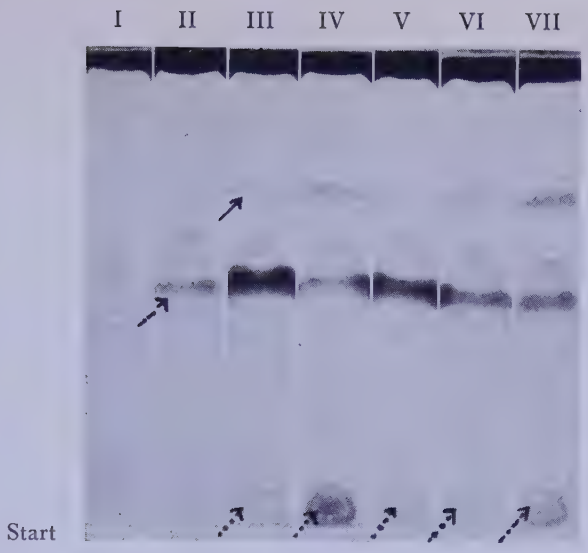


*Abb. 1.*

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen der Galle einer lebergesunden Person vor und nach der intravenösen Applikation von 60 mg 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat. System: $CH_3OH:CCl_4 = 2.8$. Phosphorsäurefärbung (Tageslicht).

——— = Prednisolonacetat.
– – – – = Freier Alkohol des 6α-Methyl-Prednisolon.
. . . . . = Prednisolon-Na-hemisuccinat.
–·–·–· = 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat.

I. Galleleerwert.
II. Erste 20-Minutensammelfraktion nach intravenöser Injektion: 6α-Methyl-Prednisolon freier Alkohol.
III. 20–40-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Steroide wie IV.
IV. Galleleerwert mit Zusatz von Prednisolonacetat, dem freien Alkohol des 6α-Methyl-Prednisolon und Prednisolon-Na-hemisuccinat.
V. 40–60-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Steroide wie IV.
VI. 60–70-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Steroide wie IV.
VII. Galleleerwert mit Zusatz von Prednisolonacetat, dem freien Alkohol des 6α-Methyl-Prednisolon und 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat.

70 Minuten war das jeweilige Eliminationsmaximum erreicht. Mit Hilfe bekannter, im gleichen Chromatogramm aufgetragener Mengen der Standards, konnten innerhalb eines Zeitabschnittes von 10 Minuten bis zu 80 μg dieser Esterspaltprodukte ermittelt werden. Neben 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat fanden wir nach Applikation dieses Steroidesters auch Farbflecken, die nach ihrem $R_f$-Wert und ihren Farbeigenschaften dem *Prednisolon-Na-hemisuccinat* entsprachen. Etwa 20 Minuten nach der intravenösen Injektion jeweils eines der beiden Ester konnte ferner eine dem *Prednisolon-*

*Tabelle 5.*

Elimination von Steroidmetaboliten im Duodenalsaft von Patienten mit Erkrankungen des Gallenwegssystems und mit Leberparenchymschaden nach intravenöser Applikation von 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat.

| Nr. | Name, Geschl. | Diagnose | Dosis i. v. | Zeit p. i. | Fraktion des 6α-$CH_3$-Prednisolon-Na-hemisucc. | Fraktion des 6α-$CH_3$-Prednisolon freien Alkohols | Fraktion des Prednisolon-Na-hemisucc. | Fraktion des Prednisolonacetats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | M. W. w. | Herzinsuffizienz mit Leberstauung | 40 mg | 20′ | | + | + | |
| | | | | 40′ | | ++ | ++ | |
| | | | | 60′ | | +++ | | |
| 2a | V. K. w. | Hepatitis | 60 mg | 20′ | | ++ | ++ | |
| | | | | 40′ | | ++++ | ++ | |
| | | | | 60′ | | +++ | | |
| 2b | V. K. w. | Hepatitis | 20 mg | 20′ | | | | |
| | | | | 40′ | | ++ | | |
| | | | | 60′ | | ++ | + | |
| 2c | V. K. w. | Hepatitis | 40 mg | 20′ | (+) | + | ++ | |
| | | | | 40′ | + | +++ | + | |
| | | | | 60′ | + | ++ | + | |
| 2d | V. K. w. | Hepatitis | 60 mg | 20′ | (+) | +++ | ++ | |
| | | | | 40′ | (+) | +++ | + | |
| | | | | 60′ | (+) | +++ | + | |
| 2e | V. K. w. | Hepatitis | 60 mg | 20′ | | | | |
| | | | | 40′ | | +++ | ++ | ++ |
| | | | | 60′ | | ++++ | ++ | ++ |
| 2f | V. K. w. | Hepatitis | 60 mg | 20′ | + | ++ | | |
| | | | | 40′ | | ++++ | ++ | +++ |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | w. | | | 40′ | + | +++ | ++ | |
| | | | | 60′ | + | +++ | ++ | |
| 3b | M. L. | Hepatitis | 60 mg | 20′ | | | | |
| | w. | | | 40′ | (+) | +++ | ++ | ++ |
| | | | | 60′ | | +++ | ++ | + |
| | | | | 70′ | | ++ | + | |
| 4a | K. H. | chronische | 60 mg | 20′ | | ++ | | |
| | w. | Hepatitis | | 40′ | + | +++ | + | |
| | | | | 60′ | | +++ | | |
| 4b | K. H. | chronische | 60 mg | 20′ | ++ | +++ | | |
| | w. | Hepatitis | | 40′ | + | ++++ | ++ | |
| | | | | 50′ | + | ++++ | ++ | |
| | | | | 60′ | | +++ | | |
| 4c | K. H. | chronische | 60 mg | 10′ | | ++ | | |
| | w. | Hepatitis | | 20′ | | ++ | | |
| | | | | 40′ | + | ++++ | + | |
| | | | | 50′ | + | ++++ | + | |
| | | | | 60′ | | +++ | | |
| 4d | K. H. | chronische | 20 mg | 20′ | (+) | | | |
| | w. | Hepatitis | | 40′ | | ++ | | |
| | | | | 60′ | | ++ | | |
| 4e | K. H. | chronische | 20 mg | 20′ | + | + | | |
| | w. | Hepatitis | | 40′ | + | ++ | | |
| | | | | 50′ | | ++ | | |
| | | | | 60′ | | ++ | | |
| 4f | K. H. | chronische | 60 mg | 20′ | | | | |
| | w. | Hepatitis | | 40′ | | +++ | ++ | |
| | | | | 60′ | (+) | +++ | | |
| | | | | 70′ | | +++ | | |

*Tabelle 5* (fortgesetzt).

| Nr. | Name, Geschl. | Diagnose | Dosis i. v. | Zeit p. i. | Fraktion des 6α-$CH_3$-Prednisolon-Na-hemisucc. | Fraktion des 6α-$CH_3$-Prednisolon freien Alkohols | Fraktion des Prednisolon-Na-hemisucc. | Fraktion des Prednisolon-acetats |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4g | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 20′ | | | | |
| | | | | 30′ | + | +++ | + | ++ |
| | | | | 40′ | + | ++++ | + | ++ |
| | | | | 50′ | + | ++++ | + | ++ |
| | | | | 60′ | + | +++ | + | ++ |
| 4h | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 20′ | | | | |
| | | | | 40′ | | ++++ | ++ | ++ |
| | | | | 50′ | + | ++++ | + | ++ |
| | | | | 60′ | | ++++ | + | ++ |
| | | | | 80′ | | +++ | | + |
| 4i | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 20′ | + | ++ | | |
| | | | | 40′ | + | ++++ | ++ | + |
| | | | | 60′ | + | ++++ | ++ | |
| | | | | 80′ | | +++ | | |
| 4k | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 10′ | (+) | ++ | | |
| | | | | 20′ | + | +++ | + | ++ |
| | | | | 40′ | + | ++++ | + | ++ |
| | | | | 50′ | + | ++++ | + | ++ |
| | | | | 60′ | + | +++ | + | ++ |
| | | | | 70′ | + | +++ | + | ++ |
| | | | | 80′ | (+) | ++ | | ++ |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4l | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 20′ | ++ | +++ | ++ | ++ |
| | | | | 30′ | | ++++ | ++ | ++ |
| | | | | 40′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | | 50′ | | ++++ | ++ | ++ |
| | | | | 60′ | | +++ | + | + |
| 4m | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 10′ | | | | |
| | | | | 20′ | + | + | | |
| | | | | 30′ | | ++ | | |
| | | | | 40′ | | +++ | ++ | ++ |
| | | | | 50′ | | +++ | ++ | ++ |
| | | | | 60′ | | + | | |
| 4n | K. H. w. | chronische Hepatitis | 60 mg | 20′ | ++ | ++ | + | |
| | | | | 40′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | | 50′ | | ++++ | ++ | +++ |
| | | | | 60′ | | +++ | + | ++ |
| 5a | E. R. w. | Herzinsuffizienz mit Leberstauung und -verfettung | 60 mg | 10′ | | | | |
| | | | | 20′ | | ++ | | |
| | | | | 30′ | | +++ | ++ | |
| | | | | 40′ | | ++++ | ++ | |
| | | | | 50′ | | ++++ | ++ | |
| | | | | 60′ | | ++++ | ++ | |
| | | | | 70′ | | ++ | + | |
| 5b | E. R. w. | Herzinsuffizienz mit Leberstauung und -verfettung | 60 mg | 10′ | | ++ | | |
| | | | | 15′ | | ++++ | + | |
| | | | | 20′ | | ++++ | + | |
| | | | | 30′ | | ++++ | ++ | |
| | | | | 40′ | | +++ | ++ | |
| | | | | 60′ | | ++ | + | |

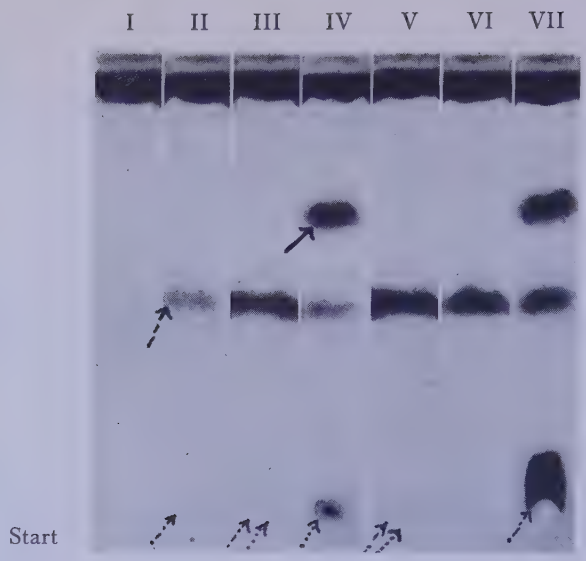


*Abb. 2.*

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen der Galle einer Patientin mit chronischer Hepatitis vor und nach der intravenösen Applikation von 60 mg 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat. System: $CCl_4$:$CH_3OH$ = 8.8. Phosphorsäurefärbung (Tageslicht).

I. Galleleerwert.
II. Erste 20-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Freier Alkohol und Na-hemisuccinat des 6α-Methyl-Prednisolon.
III. 20–30-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Freier Alkohol des 6α-Methyl-Na-hemisuccinate des Prednisolon und 6α-Methyl-Prednisolon (letztere nur im UV-Licht differenzierbar).
IV. Galleleerwert mit Zusatz von Prednisolonacetat, dem freien Alkohol des 6α-Methyl-Prednisolon und Prednisolon-Na-hemisuccinat.
V. 30–40-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Steroide wie III.
VI. 40–60-Minutensammelfraktion nach i. v. Injektion: Freier Alkohol des 6α-Methyl-Prednisolon.
VII. Galleleerwert mit Zusatz von Prednisolonacetat, dem freien Alkohol des 6α-Methyl-Prednisolon und 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat.

*acetat*standard entsprechende Fraktion nachgewiesen werden. Interessanterweise waren die gebildeten »Steroidacetatmengen« nach dem 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat grösser als die nach Prednisolon-Na-hemisuccinat.

Die Tabellen 3 und 5 zeigen die entsprechenden Untersuchungsergebnisse bei einer Reihe von Patienten mit einem Leberparenchymschaden, sowie bei solchen mit Gallenblasen- oder Gallenwegserkrankungen. Die unverändert ausgeschiedenen Ester liessen sich bei der Gruppe der Leber- und Gallekranken über einen etwas längeren Zeitraum verfolgen als bei Lebergesunden. Die

Entstehung des freien Alkohols schien allerdings bei leberkranken Patienten nicht gestört. Der freie Alkohol der beiden applizierten Steroidkonjugate wurde in der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Fälle innerhalb von 20 Minuten nach der Injektion bereits im Duodenalsaft gefunden. Dagegen fiel auf, dass bei Lebergeschädigten mit stark pathologischen Funktionstesten die Acetatfraktion entweder deutlich reduziert war oder völlig fehlte. Im Ablauf einer Therapie mit Leberschutzstoffen und Glucocorticoiden kam es, wie aus den Fällen 2 bis 4 in Tabelle 5 hervorgeht, in Abhängigkeit von einer Normalisierung der Leberfunktionsteste erneut zur Bildung der Acetatfraktion. Ähnliches liess sich auch bei Fällen mit chronischen Gallenwegsinfekten und mit Cholostase nachweisen. Die UV-Absorptionsspektren der von Dünnschichtplatten extrahierten Fraktionen des freien Alkohols des Prednisolon und 6α-Methyl-Prednisolon sowie des Prednisolonacetat entsprachen den UV-Absorptionsspektren der entsprechenden Standards. Die analogen Phosphat- und Sulfatester besitzen unterschiedliche $R_f$-Werte und lassen sich ohne weiteres abtrennen (*Zicha & Funck*, im Druck).

Ein deutlicher Unterschied bezüglich der Esterspaltung der beiden Na-hemisuccinatester konnte lediglich bei einzelnen Kontrollfällen gefunden werden, jedoch waren die Ergebnisse nicht einheitlich. Es fanden sich deutliche individuelle Schwankungen. Die Maxima der Elimination der jeweiligen freien Alkohole zeigten keine wesentlichen Differenzen. Schliesslich ist auch das Auftreten der Acetatfraktion nach der intravenösen Applikation je eines der genannten Steroidkonjugate zeitlich annähernd gleich, jedoch quantitativ nach 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat (s. o.) grösser, woraus schliesslich doch eine raschere Spaltung und Elimination von 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat resultiert.

## DISKUSSION

Bereits frühere Untersuchungen (*Funck & Zicha* 1962), insbesondere von *Tamm* (1960) und *Tamm & Voigt* (1960), haben gezeigt, dass die Hemisuccinatester relativ rasch gespalten werden können. Wie aus unseren Befunden hervorgeht, ist das Ergebnis dieser Spaltung, nämlich der freie Alkohol der jeweils applizierten Steroidkonjugate, innerhalb von 10 bis 20 Minuten nach der intravenösen Applikation im Duodenalsaft in einer bestimmten Fraktion nachweisbar. Es fällt auf, dass eine gewisse Diskrepanz zwischen dem Maximum der Elimination des jeweiligen freien Alkohols – etwa 40 bis 70 Minuten nach der Glucocorticoidapplikation – und dem frühen Sistieren der Na-hemisuccinatelimination über Galle und Duodenalsaft besteht. Dies lässt vermuten, dass entweder die Na-hemisuccinate nach dem Zeitintervall von 20 Minuten nur noch in minimalen Mengen, d. h. unter 0,02 μg pro 10 Minuten in der Galle aus-

geschieden werden, oder dass eine Elimination dieses Esters ab diesem Zeitpunkt vorwiegend über die Niere erfolgt, oder – und das ist das Wahrscheinlichste – dass eine Verteilung des Esters über sämtliche Flüssigkeitsräume des Organismus erfolgt ist, so dass wegen einer relativ niedrigen Blutkonzentration kein Gefälle in Richtung Galle Zustande kommt. Dagegen dürfte die Konzentration der freien Alkohole durch die fortlaufende Esterspaltung in verschiedenen Geweben bis zu einem gewissen Zeitpunkt zunehmen, der etwa dem Maximum der Elimination über die Galle entspricht. Dass die Esterspaltung möglicherweise nicht nur in der Leber, sondern auch in anderen Organen bzw. Geweben, und eventuell auch eine gesteigerte, kompensatorische, extrahepatische Esterspaltung stattfinden kann, dafür sprechen neben früheren Zusatzversuchen mit Organextrakten (*Axelrod & Werthessen* 1961; *Bacchus* 1953; *Birke et al.* 1959; *Cameron* 1957; *Dailey et al.* 1960; *Englert et al.* 1957; *Mahesh & Ulrich* 1960; *Schriefers & Korus* 1960; *Streeten* 1959) auch unsere Befunde bei leberkranken Patienten (vgl. *Scheiffarth & Zicha* 1961, 1962; *Zicha et al.* 1962). Da das Maximum der Elimination der freien Alkohole gegenüber Lebergesunden kaum einen Unterschied zeigte, ist die protrahierte Ausscheidung der applizierten Steroidkonjugate somit nicht allein auf eine gestörte Esterspaltung zurückzuführen. Sie könnte z. T. auch auf einer cholostatischen Wirkung beruhen. Ähnliche Befunde liessen sich nämlich auch bei Patienten mit Cholostase erheben. Als weitere Ursache ist eine gestörte Steroidverteilung im Organismus zu diskutieren. Es ist bekannt, dass bei einer Lebererkrankung neben einer verminderten Bildung von Tetrahydroverbindungen, auch eine verminderte Abwanderung und Aufnahme von Steroiden in verschiedene Gewebe zustande kommt (*Christy et al.* 1959; *West et al.* 1951). So gelang z. B. West der Nachweis, dass bei lebergeschädigten Tieren intravenös applizierte Steroide bzw. Steroidkonjugate langsamer aus dem Blut verschwinden als bei lebergesunden und dass bei einer toxischen Leberschädigung auch die Aufnahme von Steroiden durch das Fettgewebe sehr stark gestört ist.

Erstmalig konnten wir im Duodenalsaft die Entstehung von Acetaten intravenös applizierter, synthetischer Glucocorticoide auf Grund dünnschichtchromatographischer Untersuchungen wahrscheinlich machen. Im Blut war es *Weichselbaum & Markgraf* (1960) und *Markgraf & Weichselbaum* (1962) bereits früher gelungen, die Acetate von Cortisol und seiner Tetrahydroform nachzuweisen. Somit dürfte neben der Veresterung mit Glucuronsäure und Sulfated auch die Acetatbildung physiologischerweise eine Rolle spielen. Unsere Untersuchungen haben nun gezeigt, dass diese Acetylierung mit grosser Wahrscheinlichkeit *ausschliesslich* in der Leber zustande kommt, da bei Patienten mit schwerem Leberparenchymschaden eine Elimination der aus intravenös applizierten Glucocorticoidestern entstandenen Acetate entweder stark reduziert war oder völlig fehlte, und mit der Normalisierung der pathologi-

schen Leberfunktionsteste auch die Acetylierungsprozesse bald wieder aktiviert wurden.

Nach den Untersuchungen von *Berliner et al.* (1962) an Ratten beträgt die wasserlösliche Steroidfraktion in der Galle nach Applikation von markiertem Cortisol 80 bis 86 %, während sich für die lipoidlöslichen Derivate 14 bis 20 % ergeben. Sofern diese Versuche auch für den Menschen und für die synthetischen Cortisonderivate zutreffen, machen somit die von uns z. T. semiquantitativ bestimmten Steroidmengen etwa 15 % der gesamten über die Galle eliminierten Metaboliten aus. Zeitliche Unterschiede des Abbaus und der Elimination dürften im übrigen sowohl von der Spezifität der Fermentsysteme, als auch von der unterschiedlichen Bindungsfähigkeit an Plasmaproteine abhängen (*Abelson & Borcherds* 1959; *Alibrandi et al.* 1960; *Bush* 1957; *Collins et al.* 1956; *Ely et al.* 1956; *Hübener & Schmidt* 1954; *Korus & Krüskemper* 1960; *Migeon et al.* 1959; *Pearlman* 1957; *Scheuer & Bondy* 1957; *Vermeulen* 1956; *Westphal et al.* 1961).

Schliesslich scheint die menschliche Leber imstande zu sein, eine Demethylierung in C6-Stellung zu bewirken, unabhängig davon, ob der C21-Ester abgespalten ist oder nicht. Eine Demethylierung eines Delta 1-Steroids konnten *Langecker & Kramer* (1962) vor kurzem wahrscheinlich machen. Weitere Untersuchungen, insbesondere bzgl. der Identifizierung der methylierten Steroide mit Hilfe differenzierter Methoden sind im Gange.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Ausscheidung von intravenös appliziertem Prednisolon- und 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat sowie deren Metaboliten in den Duodenalsaft wurde mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie bei gesunden Versuchspersonen und bei Leberkranken untersucht.

Die in den Chromatogrammen gefundenen Fraktionen wurden durch ihre $R_f$-Werte und vier verschiedene Farbreaktionen charakterisiert. In jedem Chromatogramm wurden die Farbflecken des Duodenalsaftextraktes mit den Testsubstanzen mit und ohne Zusatz von Galleleerwert verglichen.

Die Prednisolon-Na-hemisuccinatfraktion liess sich in der Galle und im Duodenalsaft bei Lebergesunden über eine Zeitraum von 30 min, bei Leberkranken bis zu 60 min nach der Injektion feststellen. Nach einem Intervall von 20 min kam es bei der lebergesunden Kontrollgruppe zur Elimination einer Fraktion mit dem freiem Alkohol des Prednisolon und etwas später auch zur Ausscheidung einer Prednisolonacetatfraktion. Bei den Fällen mit Leberparenchymschaden fehlte diese Acetatbande.

Für 6α-Methyl-Prednisolon-Na-hemisuccinat ergaben sich ähnliche Verhältnisse. Dabei wurde in den Sammelfraktion 20 bis 60 min post injectionem

ausserdem eine Prednisolon-Na-hemisuccinatbande gefunden. Obwohl es nicht gelang, freien Alkohol des Prednisolon nachzuweisen und lediglich die Fraktion des freien Alkohols des 6α-Methyl-Prednisolon regelmässig über die Galle eliminiert wurde, konnten beträchtliche Steroidmengen in der Prednisolonacetatfraktion bereits in den Sammelperioden 20 bis 30 min nach der Applikation des Hemisuccinatesters im Duodenalsaft festgestellt werden. Auch diese Acetatfraktion fehlte bei Patienten mit schwerem Leberparenchymschaden.

Mit der Normalisierung der pathologischen Leberfunktionsteste kam es zur Bildung von Glucocorticoidacetatbanden. Es muss somit angenommen werden, dass wasserlösliche Glucocorticoidester und ihre Metaboliten über die Galle eliminiert werden und dass C21-Acetate wahrscheinlich in der Leber gebildet werden.

## LITERATUR


*Abelson D. & Borcherds D. A.:* J. clin. Endocr. *19* (1959) 219.
*Alibrandi A., Bruni G., Ercoli A., Gardi R. & Meli A.:* Endocrinology *66* (1960) 13.
*Axelrod L. R. & Werthessen N. T.:* Endocrinology *68* (1961) 180.
*Bacchus H.:* Endocrinology *53* (1953) 617.
*Berliner D. L., Leong G. F., Cazes D. M. & Berliner M. L.:* Amer. J. Physiol. *202* (1962) 420.
*Birke A. G., Diczfalusy E. & Plantin L.-O.:* Nord. Med. *61* (1959) 423.
*Bush I. E.:* In Ciba Foundation Colloquia on Endocrinol. *11* (1957) 263.
*Cameron C. B.:* Brit. med. Bull. *13* (1957) 119.
*Christy N. P., Wallace E. Z., Gordon W. E. L. & Jailer J. W.:* J. clin. Invest. *38* (1959) 299.
*Collins E. J., Forist A. A. & Nadolski E. B.:* Proc. Soc. exp. Biol. (NY) *93* (1956) 369.
*Dailey R. E., Karickhoff E. R., Swell L., Field D. H. Jr. & Treadwell C. D.:* Proc. Soc. exp. Biol. (NY) *105* (1960) 326.
*Ely R. S., Done A. K. & Kelley V. C.:* Proc. Soc. exp. Biol. (NY) *91* (1956) 503.
*Englert E. Jr., Brown H., Wallach S. & Simons E. L.:* J. clin. Endocr. *17* (1957) 1395.
*Funck F.-W. & Zicha L.:* Med. exp. *7* (1962) 1.
*Gould R. G. & Purshottam N.:* 1st Internat. Congr. on hormonal steroids, Milan (1962).
*Hübener H. J. & Schmidt J. G. H.:* Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *296* (1954) 246.
*Korus W. & Krüskemper H. L.:* Klin. Wschr. *38* (1960) 938.
*Langecker H. & Kramer M.:* 1st Internat. Congr. on hormonal steroids, Milan (1962).
*Lisboa B. P.:* 1st Internat. Congr. on hormonal steroids, Milan (1962).
*Luisi M., Salvi C., Coli F., eMarescotti V.:* 1st Internat. Congr. on hormonal steroids. Milan (1962).
*Mahesh V. B. & Ulrich F.:* J. biol. Chem. *235* (1960) 356.
*Markgraf H. W. & Weichselbaum T. E.:* 1st Internat. Congr. on hormonal steroids, Milan (1962).
*Migeon C. J., Lawrence B., Bertrand J. & Holman G. H.:* J. clin. Endocr. *19* (1959) 1411.
*Pearlman W. H.:* In Ciba Foundation Colloquia on Endocrinol. *11* (1957) 242.
*Scheiffarth F. & Zicha L.:* Med. Klin. *56* (1961) 1465, 1520.

*Scheiffarth F. & Zicha L.:* 1st Internat. Congr. on hormonal steroids, Milan (1962).
*Scheuer J. & Bondy P. K.:* J. clin. Invest. *36* (1957) 67.
*Schriefers H. & Korus W.:* Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. *319* (1960) 239.
*Stahl E.:* Chemikerzeitung *82* (1958) 323.
*Stahl E.:* Pharm. Rundschau *2* (1959) 1.
*Stahl E.:* Dünnschichtchromatographie, ein Laboratoriumshandbuch. Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1962).
*Streeten D. H. P.:* Gastroenterology *37* (1959) 643.
*Tamm C.* In: Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander. Dritte, erweiterte Auflage in drei Bänden. Ammon R. und Dirscherl W.: Band II. Hormone (1960).
*Tamm J. & Voigt K.-D.:* Acta endocr. (Kbh.) Suppl. *54* (1960).
*Vermeulen A.:* Acta endocr. (Kbh.) *22* (1956) 115.
*Waldi D. & Munter F.:* Med. exp. *3* (1960) 45.
*Weichselbaum T. E. & Markgraf H. W.:* J. clin. Endocr. *20* (1960) 1341.
*West C. D., Tyler F. H., Brown H. & Samuels L. T.:* J. clin. Endocr. *11* (1951) 897.
*Westphal U., Ashley B. D. & Selden G. L.:* Arch. Biochem. *92* (1961) 441.
*Zicha L., Scheiffarth F. & Schmid E.:* I. Internat. Endokrinologenkongr., Kopenhagen 1960. Acta endocr. (Kbh.) Suppl. *51* (1960) 349.
*Zicha L., Scheiffarth F., Schmid E. & Engelhardt M.:* Dtsch. Arch. klin. Med. *206* (1960) 415.
*Zicha L., Scheiffarth F., Bergner D. & Engelhardt M.:* Vortrag 4th Acta endocr. Congr., Genf (1962); Acta endocr. (Kbh.) Suppl. *67* (1962) 94.
*Zicha L., Scheiffarth F., Bergner D. & Eyselein U.:* Internat. Symp. on adrenal cortex and adrenal cortical hormones, Ghent (1962).

Eingegangen am 3. August, 1962.

## Lebenslauf

Am 6. Mai 1938 wurde ich als Sohn des Landwirts Horst Funck und seiner Ehefrau Leonie, geborene Splettstößer, in Arnswalde geboren. Bis 1945 wohnten wir in Zühlsdorf, Kreis Arnswalde, wo ich auch im Herbst 1944 eingeschult wurde. Nach der Flucht im Jahre 1945 zogen wir nach Leopoldshagen, Kreis Anklam, hier besuchte ich bis 1952 die Grundschule. Im gleichen Jahr übersiedelte ich nach Bad Salzuflen, um dort das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium zu besuchen. 1958 bestand ich das Abitur und begann im Sommersemester des gleichen Jahres an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Medizinstudium. Dort legte ich nach dem zweiten Semester das Vorphysikum und nach dem fünften Semester das Physikum ab. Das sechste Semester blieb ich in Mainz, im Sommer 1961 setzte ich an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen mein Studium fort. Am 21. 2. 1964 bestand ich dort das medizinische Staatsexamen mit der Note sehr gut.